

Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L.) Secara Spektrofotometri

Mia Arifka

Akademi Farmasi Dwi Farma Bukittinggi

Jl. Padat Karya Campago Guguk Bulek Bukittinggi

Korespondensi penulis : arifkaamia@gmail.com

Abstract. The Betadine plant (*Jatropha multifida* L.) is one of the Indonesian medicinal plants which is empirically widely used to treat various types of infections. The Betadine plant (*Jatropha multifida* L.) is known to contain phenolic compounds which have antioxidant activity and have bactericidal, antiseptic and anthelmintic properties. In this study, the total phenolic content of the ethanol extract of the Betadin plant (*Jatropha multifida* L.) was determined spectrophotometrically using the Folin Ciocalteu method. Gallic acid was used as a standard comparison solution in this study. From the absorbance measurement results, a linear regression equation $\hat{Y} = 0.624 + 0.001x$ was obtained with a coefficient of determination (R^2) of 0.996. The total phenolic content in Betadin plants is 0.80115% w/w which is calculated as gallic acid

Keywords: Betadine Plant, Total Phenolic, Spectrophotometry, Gallic Acid

Abstrak. Tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L.) merupakan salah satu tanaman obat Indonesia yang secara empiris banyak digunakan untuk mengobati berbagai jenis infeksi. Tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L.) diketahui mengandung senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan dan memiliki sifat bakterisidal, antiseptik dan anthelmintik. Pada penelitian ini dilakukan penentuan kadar fenolik total ekstrak etanol tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L.) secara spektrofotometri dengan metode Folin Ciocalteu. Sbagai larutan baku pembandingan pada penelitian ini digunakan asam galat. Dari hasil pengukuran absorbansi diperoleh persamaan regresi linier $\hat{Y} = 0,624 + 0,001x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,996. Kadar fenolik total pada tanaman Betadin sebesar 0,80115% w/w yang dihitung sebagai asam galat.

Kata Kunci: Tanaman Betadine, Total Fenolik, Spektrofotometri, Asam Galat

LATAR BELAKANG

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik. Senyawa fenolik diketahui sangat berperan terhadap aktivitas antioksidan dan memiliki sifat bakterisidal, antiseptik dan anthelmintik. Senyawa fenolik banyak terkandung pada tanaman, dan terdistribusi secara luas pada bagian-bagian tanaman. Salah satu tanaman yang banyak mengandung senyawa fenolik adalah tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L.) [1].

Tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang tumbuh di Indonesia dari famili Euphorbiaceae. Tanaman ini merupakan tanaman yang memiliki banyak sekali khasiat sebagai obat tradisional, namun tidak banyak masyarakat Indonesia yang mengetahuinya. Berdasarkan pengalaman empiris, beberapa masyarakat pedesaan hanya memanfaatkan getah tanaman ini untuk obat luar seperti luka baru dengan langsung mengoleskan getah daun pada luka tersebut. Batang tanaman ini juga digunakan

untuk mengobati berbagai jenis infeksi seperti, kudis, infeksi pada lidah bayi, sakit gigi, konstipasi, obat cacing dan demam [2;3]. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada batang dan daun *Jatropha multifida* L. mengandung flavonoid, dan tanin, yang merupakan senyawa fenolik. Senyawa flavonoid yang terkandung pada batang *Jatropha multifida* L. diduga memiliki aktifitas antimutagenik, antioksidan dan anti karsinogenik [4].

Penentuan senyawa fenolik total dapat dilakukan menggunakan reagen Folin Ciocalteu, dimana reagen Folin Ciocalteu ini merupakan pereaksi spesifik untuk senyawa fenol. Kadar fenolik total pada sampel ditentukan oleh kemampuan sampel untuk mereduksi reagen Folin Ciocalteu yang mengandung senyawa asam fosfomolibdat-fosfotungstat berwarna kuning yang akan membentuk senyawa kompleks berwarna biru. Metode ini dapat mendeteksi semua golongan fenolik yang terkandung dalam sampel. Sebagai standar digunakan larutan asam galat. Penentuan kadar fenolik total dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis [5].

METODE PENELITIAN

Alat

Satu set alat spektrofotometer UV-Vis (1240 mini shimadzu), satu set alat destilasi, timbangan analitik, timbangan digital, pipet volume, bola hisap, pipet tetes, labu ukur (iwaki pyrex), corong, gelas ukur (iwaki pyrex), becker glass, spatel, kertas saring whatman, botol gelap, aluminium foil, kertas perkamen, cawan penguap, kaca arloji, kain flanel.

Bahan

Tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L), aqua dest, Etanol 96% (Merck), Asam Galat p.a, Reagen Folin-Ciocalteu (Merck), Natrium karbonat (Merck), FeCl₃.

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L) yang diperoleh dari Kota Padang Panjang Provinsi Sumatra Barat secara *simple random sampling*.

Pengolahan Sampel

Tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L.) dicuci bersih kemudian dikering anginkan, dirajang, timbang sebanyak 500 g, kemudian keringkan diluar pengaruh cahaya matahari hingga diperoleh simplisia. Maserasi dengan etanol 96% selama 3x3 hari pada suhu kamar, gojok setiap 1 x 24 jam, lalu saring. Maserat kemudian di destilasi dan filtrat yang didapat diuapkan hingga kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang.

Uji Kualitatif Senyawa Fenolik

Ambil sedikit ekstrak, larutkan dengan etanol, pindahkan 3 tetes ke plat tetes, tambahkan FeCl_3 P. Jika terbentuk warna hijau kebiruan atau biru kehitaman, menunjukkan positif mengandung senyawa fenolik [6].

Pembuatan Reagen

Pembuatan Larutan Induk Asam Galat (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Timbang 25mg asam galat tambahkan 5ml etanol 96% tambahkan aquadest sampai 50ml.

Na_2CO_3 20%

Timbang 5 g Na_2CO_3 , tambahkan aqua dest sedikit-sedikit hingga 25 ml sambil dikocok, diamkan selama 24 jam, kemudian saring dengan kertas saring whatman [7].

Teknik Pengumpulan Data

Pembuatan kurva kalibrasi Asam Galat

1. Dari larutan induk asam galat di konsentrasi (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$) di pipet 2 ml ; 3 ml ; 4 ml ; 5 ml ; 6 ml dan encerkan dengan aqua dest hingga 25 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 120 $\mu\text{g}/\text{ml}$.
2. Dari masing-masing konsentrasi diatas, pipet 0,2 ml tambahkan 15,8 ml aqua dest. Tambahkan 1 ml reagen Folin-Ciocalteu, kocok dan diamkan selama 8 menit pada suhu kamar.
3. Tambahkan 3 ml larutan Na_2CO_3 20% kocok homogen, diamkan selama 2 jam pada suhu kamar.
4. Ukur serapan pada panjang gelombang 765 nm, lalu buat kurva kalibrasi yang menghubungkan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi.

Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Tanaman Betadin dengan Metode Folin Ciocalteu

1. Timbang 50 mg ekstrak tanaman betadin, larutkan dengan 10 ml etanol cukupkan dengan aqua dest hingga 25 ml, dan diperoleh konsentrasi 2 mg/ml.
2. Pipet sebanyak 2 ml larutan ekstrak, encerkan dengan 10 ml aqua dest, sehingga didapat konsentrasi 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$.
3. Dari konsentrasi tersebut dipipet 0,2 ml lalu tambahkan 15,8 ml aqua dest dan tambahkan 1 ml reagen Folin ciocalteu, kocok. Diamkan selama 8 menit, kemudian tambahkan 3 ml Na_2CO_3 20% kocok, diamkan selama 2 jam pada suhu kamar.

4. Ukur serapan pada panjang gelombang 765 nm, lakukan 3 kali pengulangan.
5. Hitung kadar fenolik total sampel dengan menggunakan persamaan regresi asam galat.

Teknik analisa data

Dalam penelitian ini, data dianalisa secara Regresi Linier dan koefisien Korelasi. Dapat dihitung menggunakan rumus regresi linier.

Rumus Regresi Linear

$$\hat{Y} = a + bx$$

Dimana : \hat{Y} = absorban

a = titik potong sumbu X dengan sumbu Y

b = koefisien regresi (kemiringan)

x = konsentrasi [8].

$$a = \frac{(\sum y)(\sum x^2) - (\sum x)(\sum xy)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

Untuk mengetahui besar pengaruh konsentrasi terhadap absorban, digunakan rumus korelasi

$$r = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{\{n(\sum x^2) - (\sum x)^2\}\{n(\sum y^2) - (\sum y)^2\}}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah tanaman Betadin, yang diambil bagian batang, ranting, tangkai daun, daun, buah dan bunganya. Pada pengolahan sampel menjadi simplisia dimulai dari sampel dicuci bersih kemudian dikering anginkan, lalu dirajang dan ditimbang sampel segar sebanyak 500 g, kemudian sampel dikeringkan dibawah pengaruh cahaya matahari selama beberapa hari hingga sampel benar-benar kering dan diperoleh simplisia.

Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi yang merupakan proses penyarian zat aktif atau pemisahan metabolit sekunder dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai dari tanaman. Pada penelitian ini digunakan metoda maserasi karena merupakan metoda sederhana baik untuk ekstraksi dalam jumlah kecil maupun jumlah besar. Metode maserasi

dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil . Maserasi ini dilakukan dengan cara merendam simplisia didalam etanol 96%. Etanol merupakan pelarut polar yang mudah menguap sehingga pelarut akan lebih mudah terpisah dari ekstraknya. Etanol dapat melarutkan hampir semua bahan organik baik senyawa polar maupun senyawa semi polar. Perendaman dilakukan selama 3x3 hari agar zat aktif pada simplisia terlarut sempurna, dan dilakukan pengojokan satu kali 24 jam untuk menjamin kehomogenan, setelah 3 hari kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan pelarut dari sampel, lalu dilakukan perendaman kembali sampai hari berikutnya. Sehingga diperoleh maserat sebanyak 2000 ml [9].

Maserat didestilasi yang bertujuan untuk memisahkan zat aktif dengan pelarut etanol. Maserat dimasukan kedalam labu destilasi, tambahkan batu didih kedalam labu tersebut untuk meratakan panas sampel agar tidak terjadi bumping (loncatan sampel yang mendidih) pada saat dilakukan destilasi. Proses destilasi berakhir apabila telah terlihat ekstrak mengental. Ekstrak kemudian timbang dalam cawan penguap yang telah dihitung bobot tetapnya dan ekstrak kental yang didapat yaitu sebanyak 6,54 g. Dari ekstrak yang diperoleh, dilakukan uji kualitatif senyawa fenolik menggunakan FeCl_3 , dan terbentuk warna hijau kebiruan, yang menunjukkan sampel positif mengandung senyawa fenolik.

Untuk penentuan kadar fenolik total pada sampel digunakan metode Folin-Ciocalteu. Reagen Folin Ciocalteu dapat digunakan sebagai uji kualitatif dan uji kuantitatif. Uji kualitatif dapat dilihat melalui perubahan warna yang terjadi setelah sampel bereaksi dengan Reagen Folin Ciocalteu, yang semula berwarna kuning membentuk senyawa kompleks baru berwarna biru. Uji kuantitatif dapat diperoleh melalui pengukuran absorbansi menggunakan alat spektrofotometer. Prinsip dari metode Folin Ciocalteu adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 765 nm. Kadar senyawa fenolik dalam sampel ditentukan oleh kemampuan sampel untuk mereduksi reagen Folin Ciocalteu yang berwarna kuning membentuk kompleks berwarna biru. Agar reaksi yang terjadi sempurna, maka didiamkan selama 8 menit.

Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu hanya dalam suasana basa, untuk membuat kondisi basa digunakan Na_2CO_3 20% yang sekaligus berfungsi untuk menstabilkan warna yang terjadi. Setelah penambahan Na_2CO_3 20% sampel didiamkan selama 2 jam, agar reaksi antara reagen Folin Ciocalteu dengan gugus hidroksi dari senyawa fenolik pada sampel dapat berjalan maksimal. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu akan membentuk kompleks berwarna biru yang dapat dideteksi dengan

spektrofotometer. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak terbentuk kompleks sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat [6].

Dalam menentukan kadar fenolik total pada sampel, dibutuhkan suatu persamaan regresi dari larutan baku pembanding. Pada penelitian ini digunakan asam galat, larutan asam galat dibuat lima konsentrasi yaitu 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml, 100 µg/ml, 120 µg/ml. Masing-masing konsentrasi asam galat diukur serapannya dengan 3 kali pengulangan yang bertujuan agar diperoleh pengukuran absorban yang akurat. Data pengukuran absorban digunakan untuk pembuatan kurva kalibrasi asam galat dan persamaan regresi linier. Persamaan regresi linear dari larutan baku asam galat adalah $\hat{Y} = 0,624 + 0,001x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,996. Artinya 99,6% dari absorban dipengaruhi oleh konsentrasi, sedangkan sisanya 0,4% dipengaruhi oleh faktor lain seperti suhu, cahaya, zat-zat kimia dan lain sebagainya [7]

Pada penelitian ini digunakan spektrofotometer UV-Vis 1240 Shimadzu untuk mengukur absorban sampel konsentrasi tertentu pada panjang gelombang 765 nm, rata-rata absorban sampel digunakan untuk menentukan kadar fenolik total. Kadar fenolik total pada tanaman Betadin diperoleh sebesar 0,80115% b/b yang dihitung sebagai asam galat. Dari data diatas menunjukkan adanya hubungan korelasi antara konsentrasi dengan absorban. Nilai r mendekati 1 membuktikan bahwa persamaan regresi tersebut adalah mendekati linier [10].

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa uji kualitatif senyawa fenolik pada ekstrak etanol tanaman Betadin menggunakan $FeCl_3$ P membentuk warna hijau kebiruan, yang menunjukkan sampel positif mengandung senyawa fenolik dengan kadar fenolik total pada tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L.) sebesar 0,80115 % b/b yang dihitung sebagai asam galat.

Disarankan untuk menentukan kadar flavonoid pada tanaman Betadin (*Jatropha multifida* L.) secara spektrofotometri.

DAFTAR REFERENSI

- Aransiola, M.N., Ehikhase, C., Mmegwa, J.C., and Wahab, I.O., 2014, Antibacterial and Antifungal Activities of *Jatropha multifida* (oegege) Sap against Some Pathogens, *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*.
- Sari, F.P and Shofi, M.S., 2012, Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* L.) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami, *Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro*.
- Falodun, A., Igbe, I., Erharuyi, O., and Agbanyim, O.J, 2013, Chemical Characterization, Anti Inflammatory and Analgesic Properties of *Jatropha Multifida* Root Bark, *Departmen of pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Benin, Benin City, Nigeria*, Vol. 17, No. 3.
- Sudaryono, A., 2011, Penggunaan Batang Tanaman Betadin (*Jatropha multifida* Linn) untuk Meningkatkan Jumlah Trombosit pada Mus musculus, *Media Medika Indonesia, Fakultas Kedokteran Universitas dan Ikatan Dokter Indonesia Wilayah Jawa Tengah*, Vol. 45, No. 2.
- Khopkar, S.M., 2003, Konsep Dasar Kimia Analitik, University Indonesia Press, Jakarta.
- Susanti, H., and Alfian, R., 2012, Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Roselia Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri, *Jurnal Ilmiah Kefarmasian Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta* , Vol 2, No. 1.
- Regina, A., Maimunah, M., dan Yovita, L., 2008, Penentuan Aktivitas Antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersium* L.), *Jurnal sains dan Teknologi Farmasi universitas andalas, STIFI yayasan perintis, Padang*.
- Schelfer, W., 1999, Statistik untuk Biologi Farmasi, Kedokteran dan Ilmu Bertautan, Terbitan Kedua, ITB, Bandung.
- Mukhriani, 2014, Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif, *Jurnal kesehatan, Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar*, Vol. VII, No. 2.
- Gandjar, I.G dan Rohman, A., 2012, Kimia Farmasi Analisis, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.